

外周血淋巴细胞热休克蛋白 60 和 70 表达水平 与工人噪声性听力损失的联系

陶晓燕^{1,2}, 杨杪¹, 谭皓¹, 郑建如³, 何美安¹, 邱堂春^{1*}

(1. 华中科技大学同济医学院公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 湖北 武汉 430030; 2. 深圳市卫生监督所, 广东 深圳 518020; 3. 东风汽车公司职业病防治所, 湖北 十堰 442000)

摘要: 目的 探讨职业性噪声暴露工人外周血淋巴细胞热休克蛋白 60 (Hsp60) 和 70 (Hsp70) 表达水平与噪声性听力损失的关系。方法 采用横断面流行病学研究, 选取 117 名噪声暴露作业工人进行听力测试, 分为听力损失组和听力正常组; 运用 Western Blot 法检测 2 组外周血淋巴细胞 Hsp60 和 Hsp70 水平。结果 与正常组相比, 高频段和低频段噪声性听力损失组的淋巴细胞 Hsp60 和 Hsp70 表达水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 校正年龄、性别、吸烟状况、爆震史和累积噪声暴露量等因素后, 得到了同样结果; Hsp70 的表达水平与累积噪声暴露量呈临界负相关 ($r = -0.179$, $P = 0.058$); Hsp70 与 Hsp60 水平之间呈显著正相关 ($r = 0.224$, $P = 0.017$)。结论 外周血淋巴细胞 Hsp70 和 Hsp60 的表达水平与高频段或低频段噪声性听力损失无相关; 外周血淋巴细胞 Hsp70 的表达水平可能反映了机体的累积噪声负荷情况; 未发现外周血淋巴细胞 Hsp60 的表达水平与机体的累积噪声负荷有相关性。

关键词: 热休克蛋白 60; 热休克蛋白 70; 噪声; 听力损失

中图分类号: TB53 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2007)03-0175-03

Association between the levels of Hsp60 and Hsp70 in peripheral blood lymphocytes and the noise induced hearing loss

TAO Xiao-yan^{1,2}, YANG Miao¹, TAN Hao¹, ZHENG Jian-ru³, HE Mei-an¹, WU Tang-chun^{1*}

(1. Institute of Occupational Medicine, School of Public Health, Tongji Medical College, HUST, Wuhan 430030, China; 2. Institute for Health Supervision of Shenzhen, Shenzhen 518020, China; 3. Institute of Occupational Medicine, Dongfeng Motor Co., Shiyan 442000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the association between the levels of heat shock protein 60 (Hsp60) and heat shock protein 70 (Hsp70) in peripheral blood lymphocytes and the noise induced hearing loss (NIHL). **Method** The cross-sectional epidemiological study was used in the investigation, included 117 noise exposed workers selected as the objects, who were divided into the NIHL group and the normal hearing group. The expression levels of Hsp70 and Hsp60 in lymphocytes of peripheral blood were detected by Western-Blot method. **Result** There was no significant difference of Hsp60 and Hsp70 levels between the NIHL workers caused by high frequency noise and low frequency noise ($P > 0.05$). Adjusting the impact factors such as age, sex, smoking, explosive noise exposure and cumulative noise exposure level (CNE), the results were still no change. But Hsp70 level seemed to show some negative correlation with CNE ($P = 0.058$) and some positive correlation with Hsp60 ($P = 0.017$). **Conclusion** It is indicated that the levels of Hsp70 and Hsp60 in peripheral lymphocytes might be not directly related to NIHL caused by high or low frequency noise, the level of Hsp70 may reflect the cumulative noise load of the body, but no correlation between Hsp60 level in peripheral lymphocytes and cumulative noise load was found.

Key words: Heat shock protein 60 (Hsp60); Heat shock protein 70 (Hsp70); Noise; Hearing loss

各种环境有害因素可以诱导细胞表达热休克蛋白 (heat shock proteins, Hsps), 从而提高细胞对热或毒物的耐受能力^[1]。本实验室研究发现血浆抗自身抗体与噪声性听力损失之间有频率特异性的联系^[2], 但目前对导致抗自身抗体产生的原因还不是十分清楚, 细胞损伤导致变性和释放是抗体产

生的可能原因之一。有研究证实噪声刺激机体后 Hsp70 在耳蜗组织内表达增加, 对耳蜗的听功能可能具有一定保护作用^[3]; 但噪声刺激后外周血淋巴细胞中表达水平有无变化及其与噪声性听力损失的关系如何目前还未见报道。由于耳蜗组织取材困难、创伤大, 不适合现场流行病学研究应用; 并且, 众所周知, 外周血淋巴细胞是一种较好的替代性生物标志物^[4], 因此, 本研究通过检测职业性噪声暴露工人外周血淋巴细胞中 Hsp60 和 Hsp70 表达水平, 以探讨其 Hsp60 和 Hsp70 表达水平变化情况, 以及这种变化是否与噪声性听力损失相关, 并试图为噪声性听力损失的生物学监测提供创伤小、

收稿日期: 2006-05-15; 修回日期: 2006-12-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371204)

作者简介: 陶晓燕 (1964-), 女, 主任医师, 主要从事环境卫生监督和研究工作, 现为 MPH 学员。

* 通讯作者, E-mail: wut@mails.tjmu.edu.cn.

简便易行的检测方法。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取某汽车有限公司汽车制造业工人 117 人作为研究对象, 所有工人均来自不接触高温和/或毒物的工种; 工龄 1 年以上; 未使用耳塞或耳罩; 接触噪声前未患听觉系统疾病; 体检前 1 个月无发热。

1.2 生产环境评价

采用丹麦产必凯 2231 型声级计测定工作场所的噪声水平, 计算累积噪声暴露量 (cumulative noise exposure, CNE)^[3], 评价工人实际噪声暴露情况。

1.3 研究对象健康状况评价

对每位研究对象均进行问卷调查和体格检查, 包括一般情况、职业史、个体防护情况、爆震史、家族史、既往史、自觉症状、生活方式等和常规体格检查。

清晨抽取每位研究对象空腹静脉血 5 ml, 肝素抗凝, 密度梯度离心法分离淋巴细胞以检测 Hsp60 和 Hsp70 表达水平。

1.4 听力学评价和听力损失的定义

采用瑞士产 RT-150 听力计, 在工人脱离噪声 16 h 后, 测量左右耳 250、500、1 000、2 000、3 000、4 000、6 000 和 8 000 Hz 的纯音气导听阈。听阈定义为研究对象所能感受到的最低信号强度, 每位工人测量 ≥ 3 次; 如果两耳之间的听阈相差 40 dB 或以上则采用屏蔽法。同时对研究对象的外耳道和鼓膜进行检查以排除其他耳部疾病。任何一耳的纯音气导听阈大于 25 分贝即定义为听力损失。听力损失可以发生于低频区段

(0.5~2 kHz), 也可以在高频区段 (4~8 kHz)。当 500、1 000 和 2 000 Hz 的听阈的平均值 (简称 PTA512) 大于 25 分贝时定义为低频听力损失; 而 4 000、6 000 和 8 000 Hz 的听阈的平均值 (简称 PTA468) 大于 25 分贝时定义为高频听力损失。

1.5 外周血淋巴细胞 Hsp60 和 Hsp70 表达水平

采用 Western Blot 法检测, 以积分光密度值表示。

1.6 统计分析

所得资料经整理后, Excel 建库, 应用 SPSS 11.5 软件包进行统计分析。计量资料两组间比较经正态性检验为正态性分布采用 *t* 检验; 分类资料的两组间比较采用卡方检验或 Fisher 精确检验; 根据 *P* 值大小进行统计推论 (*P* < 0.05 或 *P* < 0.01)。

2 结果

2.1 一般情况

与听力正常组比较, 高频段和低频段听力损失组的年龄、吸烟情况和爆震史差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 但 CNE 均显著高于正常组 (分别为 93.03 ± 9.91 vs 87.54 ± 6.34 和 95.60 ± 11.00 vs 89.20 ± 7.87, *P* < 0.05)。

2.2 不同频段噪声性听力损失组与听力正常组之间外周血淋巴细胞 Hsp70 和 Hsp60 表达水平比较

如表 1 所示, Hsp70 表达水平在高频段和低频段噪声性听力损失组外周血淋巴细胞均低于听力正常组, 但差异均无统计学意义 (*P* = 0.342); 而 Hsp60 高于听力正常组, 差异亦无统计学意义 (*P* = 0.772)。采用多元 Logistic 回归分析对两组间年龄、性别、吸烟状况、爆震史和累积噪声暴露量等因素进行校正后, 未发现差异有统计学意义 (*P* > 0.05)。

表 1 不同频段噪声性听力损失组与听力正常组外周血 Hsp60 和 Hsp70 的表达水平

表达水平 (IOD)	高频段 (PTA468)			低频段 (PTA512)		
	听力损失 (n = 54)	听力正常 (n = 63)	<i>P</i> 值 ^a	听力损失 (n = 16)	听力正常 (n = 101)	<i>P</i> 值 ^a
Hsp70 (mean ± SD)	307.93 ± 205.27	341.31 ± 173.56	0.342	317.78 ± 205.40	327.19 ± 187.06	0.854
Hsp60 (mean ± SD)	11.91 ± 6.07	11.36 ± 8.39	0.689	12.11 ± 8.70	11.53 ± 7.21	0.772

注: a——两独立样本的 *t* 检验。

2.3 噪声性听力损失的危险因素与外周血淋巴细胞 Hsp60、Hsp70 表达水平之间的相关性

采用相关分析, 控制其他因素后, 结果显示外周血淋巴细胞 Hsp70 的表达水平与累积噪声暴露量呈临界负相关 (*r* = -0.179, *P* = 0.058), 而与年龄、性别、吸烟状况和爆震史均无显著相关性; 而 Hsp60 表达水平与年龄、性别、吸烟状况、爆震史和累积噪声暴露量均无显著相关性 (*P* > 0.05), 但外周血淋巴细胞 Hsp70 与 Hsp60 表达水平之间有显著相关性 (*r* = 0.224, *P* = 0.017)。

3 讨论

生物细胞在受热和其他许多应激因素 (如缺血、缺氧、毒物、细菌或病毒感染、DNA 损伤及噪声等) 作用后发生热休克反应, 同时启动一类高度保守的蛋白质 Hsps 合成。Hsps 作为分子伴侣, 促进新合成的蛋白质的正确装配、折叠和运输, 损伤变性的蛋白质的复性或降解, 具有重要的细胞保护作用^[6~10]。

Hsp70 在耳蜗组织内表达增加, 并对耳蜗的听功能可能具有一定的保护作用^[3]。Hsp60 是 Hsps 家族的重要成员之一, 它存在于原核和真核生物细胞的线粒体内, 参于细胞内蛋白跨线粒体膜转运后的正确折叠和装配, 在完善线粒体结构和功能方面起重要作用。Hsp60 也可在高温、噪声、一氧化碳和紫外线照射等应激条件下表现出诱导性合成, 保护细胞免受各种应激的损伤^[11]。

我们在前期的研究中发现血浆中抗 Hsp60、Hsp70 自身抗体与不同频段噪声性听力损失之间有一定联系, 在本研究中, 发现职业性噪声暴露工人外周血淋巴细胞 Hsp70 的表达水平与 CNE 呈临界负相关, 而与年龄、性别、吸烟状况和爆震史均无显著相关性, 提示外周血淋巴细胞中的 Hsp70 表达水平能反映机体的累积噪声负荷情况, 即机体的累积噪声负荷越高, 外周血淋巴细胞中的 Hsp70 的表达水平越低。关于噪声刺激机体后 Hsps 在耳蜗组织内表达增加已有报道, 但外周血淋巴细胞中 Hsp70 的变化情况尚无资料参考。我们推测外周血淋巴细胞中 Hsp70 的表达规律可能与耳蜗组织中不同, 且由于本研究是一

个时点的横断面调查, 不能明确外周血淋巴细胞中 Hsp70 的动态变化, 可能由于接触噪声时间的延长, 导致细胞膜的通透性发生改变, 淋巴细胞中的 Hsp70 逸出细胞膜进入外周血; 或长期噪声刺激影响了 Hsps 的上游调控因子 hsf1 的活化和结合能力, 使机体合成减少, 从而导致淋巴细胞中的 Hsp70 表达水平随 CNE 的增加而下降。

本研究的结果还表明职业性噪声暴露工人外周血淋巴细胞 Hsp70 与 Hsp60 表达水平之间存在着显著正相关, 而外周血淋巴细胞 Hsp60 的表达水平与累积噪声暴露量之间并无显著相关性。这一结果提示机体累积的噪声负荷并不能直接影响外周血淋巴细胞 Hsp60 的表达水平。蛋白表达调控是一个复杂的过程, 当 Hsps 的上游调控因子 hsf1 活化和结合能力在长期的噪声刺激影响下发生变化时, 可能会对 Hsp60 的合成也产生影响, 从而使 Hsp60 和 Hsp70 的表达水平同时下降而表现出一定的相关性。

此外, 我们并未发现外周血淋巴细胞 Hsp60 和 Hsp70 的表达水平在高频段或低频段噪声性听力损失中的显著性作用, 提示二者可能并未与高频段或低频段噪声性听力损失的发生直接相关。噪声性听力损失的发生是受多因素影响的复杂过程, 外周血淋巴细胞中的 Hsp70 和 Hsp60 随噪声刺激的动态变化规律和机制及其在噪声性听力损失发生过程中的可能作用仍有待进一步深入研究。

参考文献:

[1] Morimoto R I, Tissières A, Georgopoulos C. Progress and perspectives on the biology of heat shock proteins and molecular chaperones [A]. In: Morimoto R I. The biology of heat shock proteins and molecular chaperones

[M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor NY, 1994: 1-30.

- [2] Yang M, Zheng J, Yang Q, et al. Frequency-specific association of antibodies against heat shock protein 60 and 70 with noise-induced hearing loss in Chinese workers [J]. Cell Stress Chaperones, 2004, 9: 207-213.
- [3] Fairfield D A, Kanicki A C, Lomax M I, et al. Expression and localization of heat shock factor (Hsf) 1 in the rodent cochlea [J]. Hear Res, 2002, 173: 109-118.
- [4] Faust F, Kassie Knasmüller S, et al. The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies [J]. Mut Res, 2004, 566: 209-229.
- [5] Talbott E O, Gibson L B, Burks A, et al. Evidence for a dose-response relationship between occupational noise and blood pressure [J]. Arch Environ Health, 1999, 54: 71-78.
- [6] Morimoto R I, Tissières A, Georgopoulos C. Heat shock proteins and stress tolerance [A]. In: Morimoto R I. The biology of heat shock proteins and molecular chaperones [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor NY, 1994: 457-494.
- [7] Lindquist S. The heat shock responses [J]. Ann Rev Biochem, 1986, 55: 1151-1191.
- [8] Lindquist S, Craig E A. The heat-shock protein [J]. Ann Rev Genet, 1988, 22: 631-677.
- [9] Gething M J. Protein folding in the cell [J]. Nature, 1992, 355: 33-45.
- [10] Hightower L E. Heat shock, stress proteins, chaperones, and proteotoxicity [J]. Cell, 1991, 66: 191-197.
- [11] Bocharov A V, Vishnyakova T G, Baranova I N, et al. Heat shock protein 60 is a high-affinity high-density lipoprotein binding protein [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 277: 228-235.

正己烷致大鼠过氧化损伤及肝细胞凋亡的实验研究

齐宝宁, 唐国慧, 易建华, 郭剑锋, 苗江丽

(西安交通大学医学院劳动卫生与环境卫生教研室, 陕西 西安 710061)

摘要: 目的 研究正己烷 (*n*-hexane) 对大鼠的脂质过氧化损伤和肝细胞凋亡的影响。方法 40 只雄性 SD 大鼠随机分成 5 组, 即阴性对照组、染毒组 (75、150、300 mg/kg) 和阳性对照组 (环磷酰胺), 每组 8 只。经腹腔注射染毒 4 周后, 检测肝组织匀浆超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活力, 血清还原型谷胱甘肽 (GSH) 和丙二醛 (MDA) 含量; 用流式细胞仪检测肝细胞凋亡情况。结果 随着染毒剂量的增加, 肝组织匀浆中 SOD、GSH-Px 活力、血清 GSH 含量降低, 而血清 MDA 含量增大, 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 流式细胞仪检测结果显示, 肝细胞凋亡率 (AV^+/PI^-) 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 与染毒剂量作相关分析, 相关系数为 0.913, 无明显的相关性 ($P > 0.05$)。结论 正己烷可引起或增强机体氧自由基反应, 导致脂质过氧化损伤, 引起肝细胞凋亡和坏死。

关键词: 正己烷; 脂质过氧化; 细胞凋亡; 大鼠

中图分类号: O623.11 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X (2007) 03-0177-03

Experimental study on the effect of *n*-hexane on lipid peroxidation damage and hepatic cell apoptosis in rats

QI Bao-ning, TANG Guo-hui, YI Jian-hua, GUO Jian-feng, MIAO Jiang-li

(Department of Occupational and Environmental Health, Medical School, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

收稿日期: 2006-06-06; 修回日期: 2006-08-02

作者简介: 齐宝宁 (1980-), 男, 硕士研究生, 研究方向: DNA 断裂的生物标记物, 现工作单位: 陕西中医学院公共卫生系 (陕西咸阳 712046)。

©1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>